

现场传染病检测 系统研究

陈 慧 著

图书在版编目—建议数据

现场传染病检测系统研究 / 陈 慧著 . —澳门: 澳门科学出版社, 2025.12

ISBN

I. ①现… II. ①陈… III. ①生物工程学 (生物技术) - 基因工程 (遗传工程)
IV. ① Q812

依据《中国图书馆分类法》提供分类参考数据。

现场传染病检测系统研究

陈 慧 著

ISBN

责任编辑: 邬燕琪

责任校对: 彭 俊

装帧设计: 黄日成

出版发行: 澳门科学出版社

地 址: 澳门南湾大马路恒昌大厦 11 楼 F 座

网 址: <https://www.mospbs.com>, <https://moaj.mospbs.com>

总 机: +853-62961666

印装公司: 澳门翰林出版集团有限公司

开 本: 787 mm × 1092 mm 1/16 印 张: 10.75

字 数: 190 千字 印 数: 1 ~ 3000

版 次: 2025 年 12 月第 1 版

印 次: 2025 年 12 月第 1 次印刷

如有缺损质量问题, 请联系本社销售中心。

版权所有, 违者必究

前言

近年来，由于环境变化，自然灾害，物种多样性变化等因素，导致各种病毒引起的传染性疾病不断爆发并重复性出现，如 SARS 病毒, H1N1, H7N9 禽流感病毒，中东呼吸综合征冠状病毒，以及这两年来谈之色变的埃博拉病毒，寨卡病毒等。而且随着全球化进程的加快以及传染病病原体传播途径的多变性，这使得这些传染病的爆发不再是局部地域出现，更是在全球范围内迅速流行，给人类健康和社会带来极大的危害。因此，对传染性疾病的防控，诊断，治疗已成为全球公共卫生领域的热点和重点。

然而传统的传染性病原体检测方法大都适用于实验室部署环境，具有检测过程分散、繁琐、实验操作复杂、对环境敏感等缺点，并且对实验员的实验技能要求较高。这些弊端都大大限制了传统检测技术在现场传染病检测中的应用。传染病病原体现场快速检测要求具有操作简单，低价，便携，易于实现自动化等特点，因此，急需寻找一种新的技术平台以满足传染病的现场检测需求。

本书首先利用 3D 打印技术，设计并制作了封闭式的检测卡盒，在此基础上研发了全自动的便携式的核酸检测系统，并对仪器进行了各项性能测试及实际现场传染病的检测，成功地完成了现场传染病从样本输入到结果输出的自动化检测过程。具体内容包括：

基于 3D 打印技术的封闭式检测卡盒的设计与制造

首先根据病原体核酸检测的实验流程明确了封闭式卡盒的设计需求，提出了基于柔性滑片的封闭式卡盒结构及其内部各功能模块。整个设计与制造过程采用了

高精度的 3D 打印技术及医用级 PC-ABS 材料，共经历 5 个批次的快速迭代试制过程，优化后的卡盒仅由 7 个零件组成，其尺寸为 $140\text{ mm} \times 90\text{ mm} \times 30\text{ mm}$ 。其内部集成移液模块、样本处理及检测区域，样本处理范围为 $20\sim 1000\text{ }\mu\text{L}$ ，可同时进行 1~6 项实时荧光 PCR 检测。液体操作范围为 $2\sim 200\text{ }\mu\text{L}$ ，实测在 $10\text{ }\mu\text{L}$ 和 $100\text{ }\mu\text{L}$ 处的移液相对误差分别为 1.71% 和 0.76%，重复性 CV 值分别为 2.3% 和 0.77%，均优于国标规定。同时，对卡盒内的磁珠法核酸提取及 PCR 配制过程进行了优化。最后，实验证明了上游核酸提取试剂的挥发对于下游 PCR 检测并未造成抑制影响，说明了在封闭式卡盒内进行一体化核酸检测是可行的。

基于封闭式卡盒的现场病原体检测系统的研发

以封闭式卡盒为基础，研发了与之配套的自动化驱动系统，其内部由移液控制，磁分离加热，热循环，荧光采集及辅助电路等功能模块组成。其中，移液控制模块的最大操作量程为 $260\text{ }\mu\text{L}$ ，精度为 $0.118\text{ }\mu\text{L}$ ，内含滤芯以防止交叉污染；磁分离加热模块采用倾斜式滑动结构，可程序化控制磁富集的位置，且温控精度为 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，可在 2 min 内升至目标温度；热循环模块可提供 3 通道的 PCR 反应条件，其升降温速度分别为 $4.6^{\circ}\text{C}/\text{s}$ 及 $4.0^{\circ}\text{C}/\text{s}$ ，控制精度为 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ ；荧光采集模块提供双色荧光通道 (FAM/SYBR Green 和 Texas Red 波长的范围的)，采用单色 LED 作为激发光源，波动性小于 $1\text{ }\mu\text{W}$ ，单次荧光信号的采集在 2.5 s 内完成。仪器整体尺寸为 $270\text{ mm} \times 275\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ ，重量为 6.5 kg。现场操作时仅需将带样本的卡盒放入仪器中，并配置实验参数，则可自动完成整个检测流程。

现场病原体检测系统的性能测试

首先使用百日咳病毒质粒 DNA 进行了核酸提取效率的对比实验，系统和手工提取的效率分别为 95.49% 和 84.33%；使用 HBV 质粒 DNA 测试获得了 10^4 copies/mL 的提取限，说明系统的样本处理能力在效率和灵敏度均可满足下游 PCR 检测的需求。同时，分别使用 E.coli 及 HBV 病毒的真实临床样本进行了核酸提取对比实验，结果显示采用本系统操作在产量上比手工操作分别高出 $6.6\text{ ng}/\mu\text{L}$ 和 $0.93\text{ ng}/\mu\text{L}$ 。通过平行实验测得本系统的实时荧光 PCR 检测孔间差异为 0.023 (CV 值)，检测限为 104 copies/mL 。最后，使用本系统连续运行 20 次阴性和阳性样本的间隔实验，测试结果与预期一致，表明系统没有发生批间交叉污染的现象。

现场传染病检测实验

在江苏省疾控中心进行了腺病毒的检测实验，并采用罗氏 LightCycler 2.0 荧光定量 PCR 仪进行实验对照，获得未知样本的 Ct 值分别为 31.15 和 31.68，阳参的 Ct 值分别为 27.52 和 28.01，从扩展曲线形态和 Ct 值的比较说明两系统的检测结果较为一致。最后，使用本卡盒系统对沙门氏菌及志贺氏菌进行联合检测，并设置卡盒内采用悬滴加样的方式进行 PCR 体系的配置，同时采用 ABI SteponePlus 实时荧光定量 PCR 系统进行实验对照。两系统的扩展曲线形态一致，两路荧光检测(FAM and Texas Red)的 Ct 值均值差值分别为 0.71 和 0.98 左右，仅相差 0.29，结果表明卡盒系统在多重检测方面与商用系统的检测结果较为一致。

目录

第一章 绪 论

第一节	背景及研究目的	1
第二节	传染病病原体检测技术	2
第三节	现场传染病病原体检测系统	11
第四节	主要研究内容	20

第二章 封闭式病原体检测卡盒设计

第一节	引言	47
第二节	卡盒的设计原理和制造方法多重检测卡盒的设计	48
第三节	多重检测卡盒的设计	55
第四节	性能验证和测试	71
第五节	本章小结	81

第三章 基于封闭式卡盒的现场病原体检测系统的研制

第一节	引言	88
-----	----	----

第二节	系统的整体设计	89
第三节	功能模块的设计	92
第四节	系统组装与集成调试	101
第五节	系统性能调试	111
第六节	本章小结	121
 第四章 系统性能验证及应用		
第一节	引言	126
第二节	卡盒核酸检测系统性能测试	127
第三节	卡盒核酸检测系统的应用	147
第四节	本章小结	154
 第五章 总结与展望		
第一节	总结	159
第二节	展望	160
 附 录		162

英文缩写

cDNA (Complementary DNA) 互补脱氧核糖核酸

CV (Coefficient of Variation) 变异系数

DNA (Deoxyribonucleic Acid) 脱氧核糖核酸

FDA (Food and Drug Administration) 食品药品监督管理局

GICA (Gold Immune Chromatography Assay) 胶体金免疫层析技术

HBV (Hepatitis B Virus) 乙型肝炎病毒

HDA (Helicase Dependent Isothermal DNA Amplification) 赖解旋酶恒温扩增技术

HIV (Human Immunodeficiency Virus) 人类免疫缺陷病毒

LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 环介导等温扩增技术

LCR (Ligase Chain Reaction) 连接酶链反应

NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) 依赖于核酸序列的扩增技术

PCR (Polymerase Chain Reaction) 聚合酶链式反应

POCT (Point-Of-Care Testing) 即时检验

SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) 严重急性呼吸道综合征

SDA (Strand Displacement Amplification) 链置换扩增技术

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 单核苷酸多态性

RAA (Recombinase-Aid Amplification) 重组酶介导扩增技术

RCA (Rolling Circle Amplification) 滚环扩增技术

RNA (Ribonucleic Acid) 核糖核酸

WHO (World Health Organization) 世界卫生组织

第一章 绪论

第一节 背景及研究目的

近年来，由于环境变化，自然灾害，物种多样性变化等因素，导致各种传染性疾病不断爆发并重复性出现^[1-5]，如 SARS 病毒^[6-8]，H1N1 病毒^[9-11]，H7N9 禽流感病毒^[12-14]，中东呼吸综合征冠状病毒^[15-17]，以及这两年来谈之色变的埃博拉病毒^[18-20]和寨卡病毒^[21-23]等。同时，随着全球化进程的加快以及传染病传播途径的多变性，这使得传染病不再是局部地域出现，更是在全球范围内迅速流行，给人类健康和社会带来极大的危害^[24-26]。因此，对传染性疾病的防控、诊疗已成为全球公共卫生领域的热点和重点^[27-31]。

传染病疫情的防控是争分夺秒的，在疫情的现场，时间就是生命，确诊的时间越短，生命得到拯救的机率就越大。传统的传染病检测过程从疫情现场采样到样本输送到实验室处理^[32, 33]，再到到确诊报告，所需周期较长，导致错过最佳的治疗时机。另外，很多时候传染病疫情爆发初期，根据患者的病理反应症状并不能确定是由哪种病原体引起的，甚至可能是多种病原体共同作用导致的^[34-36]，这就需要对类似反应的病原体逐一排查确认^[37, 38]。如此更延长了疾病诊断的时间，对患者生命尤为不利。因此，若能对传染病病原体的现场快速诊断检测，并进行组合筛查^[39]，可以有效控制传染病疫情，极大地减轻疫情的伤亡情况。

然而，传统的病原体检测方法大都只适用于实验室环境，并且对检测员的实验技能要求较高^[40]。这些弊端大大限制了传统检测技术在现场快速检测中的应用。应用于现场的传染病病原体快速检测技术要求操作简单，成本较低，便携及易于

2019

历史机遇 · 打造交流合作基地

Historic Opportunity · Build Communication And Cooperation Bases

· 粤港澳大湾区 · 发展规划纲要

解读2019年新发布《粤港澳大湾区发展规划纲要》

★★★★

大湾区规划 · Introduction

《粤港澳大湾区发展规划纲要》明确了澳门“一个中心、一个平台、一个基地”的三个定位，即：建设世界旅游休闲中心、中国与葡语国家商贸合作服务平台，**打造以中华文化为主流、多元文化共存的交流合作基地。**

It further clarified the three orientations of "one center, one platform and one base" of Macao, namely, to build a world tourism and leisure center, a business and trade cooperation service platform between China and Portuguese-speaking countries, and to build an exchange and cooperation base with Chinese culture as the mainstream and multicultural coexistence.

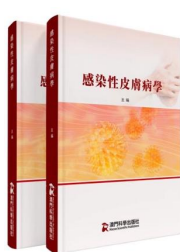


全球发行 · Publishing worldwide



由于国内自费书没有实际销售，出版社不会实际发行，属于非正式出版物，因此国内自费书绝大部分是属于非正式出版物。国际出版即便在没有销售市场的情况下也可以在海外发行上架。世界上其他地方（包括中国）的读者可以通过海外电商平台进行订购和销售。

Since there is no market for self-funded books in mainland China, mainland publishing houses will not actually issue them, so most of self-funded books in the Mainland are informal publications.



- 呼吸系統基本基礎與臨床 Fundamentals and clinic of respiratory diseases
- 臨床腫瘤護理學 Clinical oncology nursing
- 感染性皮膚病學 Infectious dermatology
- 內分泌系統疾病 Endocrine system disease



- 實用小兒內科學 Practical pediatric internal medicine
- 消化系統疾病診療學 Diagnosis and treatment of digestive system diseases
- 現代中醫診斷學 Modern diagnostics of traditional chinese medicine
- 皮膚修復與再生 Skin repair and regeneration

出版流程 · Publishing Process

出版流程快速简便，在填写基本信息、签订合同并支付费用后，IBPC将原始内容进行校对、排版及封面设计；在经过多次校对后，提交申请国际书号；可根据实际需求进行印刷和馆藏存档，最后上架发行。全程专人沟通指导，以极高性价比的方式出版属于自己的作品。

The publishing process is simple and convenient, after filling in the basic information, signing the contract and paying the fee, IBPC will conduct proofreading, typesetting and cover design. After multiple proofreading, submit the ISBN application. According to the actual needs, we will arrange printing and collection archiving, and finally put on the shelves and issued.

检索服务 · Retrieval Service

IBPC的检索服务可提供出版物国际注册文件及出版物所在地的图书馆检索证明，为作者提供证明文件支撑。同时，优秀图书将推荐至国际数据库中收录，提升出版物的认可度。

IBPC can provide retrieval service including the registration documents and the library search certificate. Meanwhile, excellent books will be recommended for inclusion in authoritative databases to enhance the recognition of publications.

销售协议 · Sales Agreement

作者签订销售合作协议后，IBPC可提供多种上架渠道，包括官网、京东、天猫、亚马逊、当当网等平台，可销售纸质印本与电子图书等形式，并按照合作协议进行利润分成。

After the author signs the sales agreement, IBPC can provide a variety of sales channels, such as the official website, JD & T-mall overseas Purchase, Amazon and other platforms, printed paper and electronic books are available, and the authors share the profits according to the sales agreement.



填写信息
Information Filling



签订合同
Contract Signing



支付费用
Payment



提交书稿
Submitting



内容校对
Proofreading
内容排版
Content Layout
封面设计
Cover Design



申请书号
ISBN Apply



印刷出版
Printing



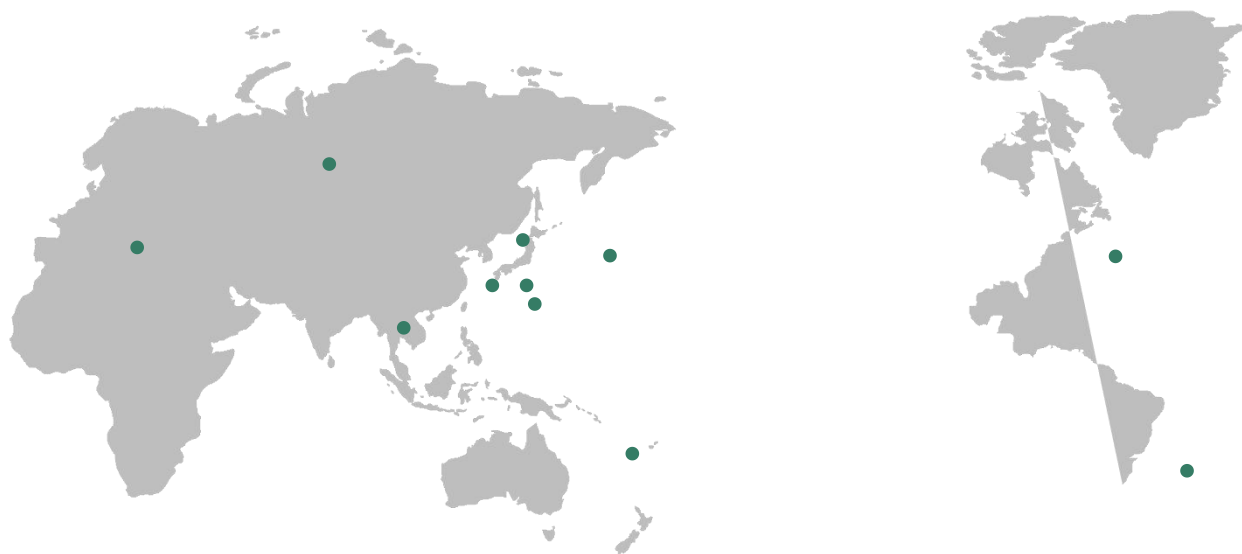
馆藏存档
Archives



上架发行
Publication

澳门科学出版社 MOSP

“以服务青少年及青年科学才俊为己任，
打造国际性的科学技术交流平台”



正规国际出版，首选澳科出版

- 学术著作/个人作品 - 优质
- 中华“强国文化”输出战略 - 翻译后国际出版
- 数字教材 - 教材出书 & 数字化媒体上线

所有优质内容，均可申请出版减免资助。

所有澳门本土内容，均可申请出版减免资助；

澳门总部

电话：0853-62961666（澳门）

邮件：book@mospbs.com

地址：中国澳门南湾大马路恒昌大厦F座11楼

网址：www.mospbs.com（英文）| moaj.mospbs.com（中文）

特别提醒：MOSP所有业务均有出版社的正规盖章合同，
若有任何疑问，可联系出版社编辑确认。